

VALIDACIÓN DE UN NUEVO MÉTODO DE PRECONCENTRACIÓN Y MEDICIÓN DE MERCURIO EN SEDIMENTOS UTILIZANDO MATERIALES SOL-GEL DOPADOS CON EXTRACTANTES SULFURADOS

Flora Mercader T.¹ Raúl Herrera B.¹, Eduardo Rodríguez de San Miguel-G.², Josefina de Gyves-M.²

¹ Centro Nacional de Metrología, Dirección de Metrología de Materiales, División Materiales Metálicos. El Marqués, Qro., México, Tel.: (442)2110500, Fax: 2110569, fmercade@cenam.mx.

² Departamento de Química Analítica, D.E.Pg., Facultad de Química, UNAM, Ciudad Universitaria, México D.F. 04510, México, Tel: (55)56223792, Fax: (55) 56223792, erdsm@servidor.unam.mx, degyves@servidor.unam.mx.

Resumen

El mercurio es un metal pesado altamente tóxico presente en el ambiente por causas naturales o antropogénicas. El mercurio contenido en los cuerpos receptores de agua tiende a precipitarse y acumularse en los sedimentos. Por lo tanto, las mediciones de mercurio en sedimentos representan un buen indicativo de la calidad del ecosistema.

En este trabajo se presentan las diferentes etapas involucradas en el desarrollo de un nuevo método de separación, preconcentración y medición de mercurio en sedimentos con contenidos naturales de este elemento. La separación y preconcentración se realizó mediante el uso de nuevos materiales sorbentes preparados a través del proceso sol-gel utilizando CYANEX 471X (sulfuro de triisobutilfosfina) y CYANEX 301 (ácido bis (2,4,4-trimetilpentil) ditiofosfínico) como extractantes de mercurio. Se describe la optimización de la etapa de acoplamiento de los materiales empacados en columna, utilizando un sistema automatizado de inyección de flujo, para conectarla en línea con un espectrómetro de absorción atómica donde se realizó la medición de mercurio por generación de vapor frío. Como parte importante en el desarrollo de un nuevo método analítico, se encuentra su validación, la cual es materia de este trabajo. Por lo tanto, una vez optimizado, el método fue validado evaluando los siguientes parámetros: robustez, intervalo lineal y de trabajo, límite de detección y de cuantificación, selectividad, exactitud (repetibilidad y veracidad) e incertidumbre. El método fue aplicado para la medición de mercurio en un sedimento de presa con contenidos naturales de este analito. Los resultados se compararon con los obtenidos mediante espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado (ICP-MS) y espectrometría de fluorescencia atómica con generación de vapor frío (CV-AFS)

1. INTRODUCCIÓN

El mercurio ha sido catalogado como uno de los metales pesados más tóxicos que se encuentran en la naturaleza, siendo las actividades humanas la principal causa del incremento gradual del contenido de este metal en el ecosistema.[1]

Con la finalidad de evitar daños adversos en los seres vivos, la normatividad internacional en materia ambiental es cada vez más estricta. Inherente a esta acción, surge la necesidad de tener métodos analíticos con suficiente sensibilidad, que sean capaces de emitir mediciones confiables y que satisfagan los límites legales establecidos.

En la actualidad, para el caso particular de mercurio, ya existen en el mercado instrumentos analíticos que cumplen con estos requisitos, como son los espectrómetros de masas con plasma inductivamente acoplado (ICP-MS) [2] o los espectrómetros de fluorescencia atómica (AFS) [3].

Sin embargo, su costo excesivo los vuelve inaccesibles para la mayoría de los laboratorios. Como consecuencia, la espectrometría de absorción atómica con sistema de generación de vapor frío (CV-AAS), sigue siendo la técnica analítica más utilizada para realizar mediciones de mercurio en diferentes matrices. Una forma de hacer más competitiva esta técnica es incrementar su sensibilidad a través del uso de métodos de separación que permitan concentrar al mercurio antes de llegar al sistema de detección. Con este fin, se desarrolló un nuevo método de preconcentración, utilizando extracción en fase sólida, mediante el uso de columnas empacadas con un material sorbente de nueva creación. Este material fue preparado a través del método sol-gel, lo cual permitió atrapar moléculas de extractantes selectivos al mercurio dentro de su estructura. Los compuestos extractantes estudiados fueron el CYANEX 471X (sulfuro de tri-isobutilfosfina) y el

CYANEX 301 (ácido bis (2,4,4-trimetilpentil) ditioposfínico).

Al desarrollar un nuevo método analítico, es imperante conocer su desempeño para evaluar si está cumpliendo con los requisitos para lo que fue creado [4]. En este trabajo se presenta el proceso de validación del método analítico desarrollado, para lo cual se hace una descripción de la forma como fueron evaluados los siguientes parámetros: intervalo lineal y de trabajo, límite de detección y de cuantificación, exactitud (repetibilidad y veracidad), robustez e incertidumbre. Con la finalidad de identificar más fácilmente los parámetros de influencia en el proceso de medición, se presenta una descripción breve de la preparación del material sol-gel y del desarrollo del método, parte de lo cual ya fue presentado previamente [5].

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1 Lavado del material

Todo el material de laboratorio utilizado fue lavado con HNO_3 al 10% y enjuagado con agua desionizada de acuerdo con el procedimiento establecido en el Área de Metrología de Materiales [6].

2.2 Reactivos

Ácidos de alta pureza: HCl 37 % (Aldrich, 99,999 %), HNO_3 65 % (Aldrich 99,999 %). La disolución de NaBH_4 (Aldrich, 98 +%) se preparó diariamente disolviendo una cantidad apropiada de la sal en NaOH 0,05 % (J.T. Baker 98,6 %). Tetraetoxisilano, TEOS (Aldrich 99 %) HF grado reactivo (J.T. Baker), alcohol etílico, grado reactivo (Aldrich)

2.3 Materiales de Referencia

DMR-110b, Disolución espectrométrica de mercurio, $(1010,5 \pm 8,0) \text{ mg L}^{-1}$ de Hg en HNO_3 2%, certificado por el CENAM, México.

SRM 2709, San Joaquin Soil, $(1,40 \pm 0,08) \text{ mg kg}^{-1}$ de Hg, certificado por el National Institute of Standards and Technology (NIST), EUA.

GSD-9 y GSD-11, Sedimento de alcantarilla, valores de referencia para Hg: $(0,083 \text{ y } 0,072) \text{ mg kg}^{-1}$ respectivamente, elaborado por el Institute of Geophysical and Geochemical Exploration, China.

2.4 Equipo

Sistema de preparación de muestras por microondas, modelo MDS-2100, marca CEM.

Espectrómetro de absorción atómica, marca Perkin Elmer, modelo 5100zl, equipado con un automuestreador AS90 y un sistema de análisis por inyección de flujo, modelo FIAS 400, que incluye dos bombas peristálticas y una válvula de 5 puertos dentro de su configuración.

Espectrómetro de masas de alta resolución con plasma acoplado por inducción (ICP-MS), modelo Element marca Finnigan Mat.

Espectrómetro de fluorescencia atómica con generación de vapor frío (CV-AFS), modelo Millennium Merlin System, marca PS Analytical,

2.5 Preparación del material sol-gel

En esta sección se señala la forma de preparación del material sol-gel bajo condiciones óptimas. El proceso de evaluación de los diferentes factores que afectan el desempeño del gel se presenta más ampliamente en otro trabajo [7].

La preparación de los geles se realizó con base en el procedimiento descrito por Khan y col. [8]. Se mezcló el TEOS con un exceso de agua desionizada, se agregaron 25 mL de una disolución etanólica del extractante (CYANEX 301 o CYANEX 471X) en presencia de $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ de catalizador (HF). La mezcla se agitó en un baño ultrasónico durante 30 minutos. Al cabo de este tiempo, se dejó en reposo hasta que se observó la formación del gel. El gel se dejó madurar y secar a temperatura ambiente hasta obtener peso constante. Una vez seco, el xerogel se molió y se tamizó a un tamaño de partícula entre 100 y 250 μm . Finalmente, se pesaron 0,1 g del material y se empacaron en una columna de silicón de 4 cm de longitud y 5 mm de diámetro interno. En los extremos de la columna, se colocaron discos de papel filtro y fibra de vidrio, para evitar pérdidas del material.

2.6 Digestión de muestras

Por las características volátiles del mercurio, la digestión de las muestras de sedimento se realizó mediante un sistema cerrado utilizando energía de microondas. Se aplicó el método EPA 3051 "Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils and Oils". Para tal efecto, se pesaron 0,25 g del sedimento, se adicionaron 5 mL de HNO_3 de alta pureza y se procedió a la digestión. Una vez terminado el proceso, las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente, se filtraron y se diluyeron a 100 mL (o 100 g) con agua desionizada.

2.7 Sistema de preconcentración

La columna, que contiene el material sol-gel, se acopló en línea con el espectrómetro de absorción atómica con ayuda del FIAS 400. El diagrama esquemático de la configuración de la válvula de 5 puertos, modificada para la preconcentración de mercurio en línea se presentó en un trabajo previo [5].

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros evaluados durante el proceso de validación fueron: robustez, límite de detección y de cuantificación, intervalo lineal y de trabajo, selectividad, exactitud (repetibilidad y veracidad) e incertidumbre.

3.1. Robustez

Las pruebas de robustez del método se realizaron durante la etapa de optimización. Se identificaron los siguientes factores de influencia, los cuales se estudiaron en el intervalo señalado: flujo de argón (50-250 mL min⁻¹), concentración del eluyente (0,4 a 9 mol L⁻¹), flujo de eluyente y reductor, determinado por la velocidad de la bomba peristáltica (20-120 rpm), tiempo de preconcentración (30-180 s), tiempo de elución (5-30 s) y estabilidad de la columna (100 ciclos de uso). Con la finalidad de obtener un máximo en la señal de absorbancia del mercurio, además de tener picos bien definidos, se diseñó el experimento variando un factor a la vez. Cada factor estuvo compuesto de al menos 6 diferentes niveles. Las condiciones óptimas de análisis se obtuvieron con los parámetros señalados en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones experimentales óptimas

Factor	Valor
Flujo de argón	100 mL min ⁻¹
Conc. HCl	2 mol L ⁻¹
Velocidad de bomba peristáltica	100 rpm
Tiempo de preconcentración	90 s
Tiempo de elución	5 s
Ciclos de uso	100

3.2. Límite de detección (L.D.) y de cuantificación (L.C.)

Puesto que el principal objetivo del desarrollo de este método, es poder medir concentraciones de mercurio al nivel de trazas, es de primordial importancia conocer el límite de detección y de cuantificación. Para evaluar estos parámetros se consideraron las siguientes expresiones:

$$L.D. = \bar{y}_b + 3s_b \quad (1)$$

$$L.C. = \bar{y}_b + 10s_b \quad (2)$$

Donde \bar{y}_b representa el promedio de las mediciones del blanco y s_b es la desviación estándar de las mediciones del blanco [4].

Se prepararon 10 blancos independientes, colocando 5 mL de HNO₃ en cada vaso de microondas y se sometieron al mismo proceso de digestión y preparación que las muestras. Se midió la señal de absorbancia en cada uno de ellos (altura de pico) y mediante el uso de la función de calibración, se transformaron los valores de absorbancia en unidades de concentración.

En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos en función del extractante estudiado. Los L.D. y L.C. se calcularon en las disoluciones acuosas (ng L⁻¹) y en el sedimento (ng g⁻¹), involucrando la cantidad de sedimento utilizada para la digestión y el volumen final de aforo.

Tabla.2 Límite de detección y cuantificación

Extractante	L.D.		L. C.	
	ng L ⁻¹	ng g ⁻¹	ng L ⁻¹	ng g ⁻¹
CYANEX 301	33	13,2	66	26
CYANEX 471X	24	9,6	55	22

3.3. Intervalo lineal (I.L.) y de trabajo (I.T.)

Estos parámetros se estudiaron utilizando blancos (HNO₃ 5 %) y disoluciones de mercurio de diferentes concentraciones (0,05 - 3 µg L⁻¹), preparadas a partir de diluciones del material de referencia DMR 110b. Cada una de las disoluciones se pasó a través de la columna de preconcentración, bajo condiciones previamente optimizadas. Se obtuvo la señal de absorbancia (altura de pico) y se graficó vs la concentración de mercurio. A los datos colectados se les aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y de residuales para definir el intervalo donde los datos se ajustan mejor a una función de calibración lineal. De esta forma, se obtuvieron los datos incluidos en la Tabla 3.

Tabla 3. Intervalo lineal y de trabajo

Extractante	I.L.	I.T.
	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$
CYANEX 301	0,1-2	0,066 - 2
CYANEX 471X	0,1-3	0,055- 3

Es importante señalar que no se evaluaron concentraciones mayores de $3 \mu\text{g L}^{-1}$, ya que éstas pueden ser medidas con suficiente confianza por CV-AAS sin requerir un sistema de preconcentración adicional. En cuanto al intervalo de trabajo, en su límite inferior se consideró el límite de cuantificación [4].

3.4 Selectividad

Se estudió el efecto de los siguientes iones: Cr(III), Ni(II), Cu(II), Pb(II), As(V), Fe(III), Co(II), Zn(II), Na(I), Mg(II), Al(III), K(I) y Ca(II). Los interferentes fueron adicionados individualmente a una disolución de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg(II) en HNO_3 5 %. Se procedió a pasar cada una de las disoluciones por el sistema de preconcentración y, las señales de absorbancia obtenidas fueron comparadas contra las de una disolución de Hg(II) de la misma concentración sin interferentes. Estos valores de absorbancia se utilizaron para calcular la respuesta relativa. En la Tabla 4, se incluyen los iones estudiados, la relación $[\text{Ion}]/[\text{Hg}]$, así como la respuesta relativa (%), para los geles con CYANEX 301 y 471X.

Tabla 4. Evaluación de la selectividad del método

Ion	Relación $[\text{Ion}]/[\text{Hg}]$	Respuesta relativa (%)	
		Gel CY 301	Gel CY 471X
As (V)	100	100	100
Cr (III)	600	130	133
Pb (II)	600	180	100
Ni (II)	800	100	100
Co(II)	1500	100	100
Zn(II)	2500	140	128
Cu (II)	6000	100	123
K(I)	$2,5 \times 10^5$	112	85
Mg(II)	5×10^5	72	43
Ca(II)	5×10^5	58	34
Fe(III)	7×10^5	154	220
Na(I)	1×10^6	109	38
Al(III)	1×10^6	58	34

3.5. Exactitud

Para determinar la presencia de efectos aleatorios y/o sistemáticos en los resultados obtenidos para la

determinación de Hg(II), utilizando el método de preconcentración, se evaluaron la precisión (repetibilidad) y la veracidad como parámetros de validación.

3.5.1 Repetibilidad

La precisión del método de preconcentración de Hg, se determinó en términos de repetibilidad. Se evaluó realizando 10 mediciones de cada una de las disoluciones de $0,5$ y $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg en HNO_3 5 %. Los resultados se presentan en la Tabla 5 expresados como coeficiente de variación (%CV), para cada uno de los geles empleados como medio de preconcentración.

Tabla 5. Evaluación de la repetibilidad

Hg ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CYANEX 301	CYANEX 471X
	% CV	% CV
0,5	1,04	1,5
1,0	0,83	1,8

3.5.2 Veracidad

La veracidad del método desarrollado se evaluó midiendo el contenido de mercurio en materiales de referencia.

Los resultados obtenidos se compararon contra los valores certificados (o de referencia). Cabe señalar que para el gel con CYANEX 301 se utilizó el método de cuantificación mediante calibración externa, sin embargo, para el CYANEX 471X fue necesario aplicar la calibración analítica por adición de patrón. En la Tabla 6 se presentan los resultados encontrados, incluyendo el porcentaje de recuperación (% R) y los valores obtenidos al aplicar el método a una muestra real de un sedimento, colectada de la presa "El Centenario" ubicada en Tequisquiapan, Qro. Para obtener el %R en la muestra real, se adicionaron cantidades conocidas de mercurio a la muestra ($0,2$ y $0,4 \mu\text{g/L}$ de Hg). Los valores se presentan como el promedio de 3 mediciones independientes y su desviación estándar. Al aplicar una prueba t para la comparación por pares de los valores obtenidos con el método desarrollado contra los valores de referencia, se concluyó que no hay diferencia significativa entre ellos, a un nivel de confianza del 95%.

También se compararon los resultados obtenidos mediante el método propuesto contra los encontrados utilizando técnicas analíticas alternativas como son ICP-MS y CV-AFS. Los resultados se encuentran en la Tabla 7.

Tabla 6. Evaluación de la veracidad del método

Muestra	Valor Certificado mg kg ⁻¹ de Hg	Gel-CY 301		Gel-CY 471X	
		Valor Medido mg kg ⁻¹ de Hg	% R	Valor Medido mg kg ⁻¹ de Hg	% R
SRM 2709	1,40 ± 0.08	1,39 ± 0,05	99,3	1,40 ± 0.03	100,3
GSD-9	0,083*	0,085 ± 0,001	102,9	0,079 ± 0.002	95,4
GSD-11	0,072*	0,075 ± 0,004	104,6	0,075 ± 0.001	104,4
Sed. de Presa	-	0,047 ± 0,003	104,0	0,049 ± 0.003	98

* Valores de referencia

Tabla 7. Evaluación de la veracidad del método utilizando técnicas analíticas alternas

Muestra	mg kg ⁻¹ de Hg		
	Valor Certificado	ICP-MS	CV-AFS
SRM 2709	1,40 ± 0.08	1,36 ± 0,05	1,44 ± 0,02
GSD-9	0,083*	0,082 ± 0,011	-
GSD-11	0,072*	0,075 ± 0,010	-
Sed.de Presa	-	0,049 ± 0,006	0,051 ± 0,003

* Valores de referencia

3.6 Incertidumbre

La evaluación de la incertidumbre se realizó de acuerdo a lo recomendado en la Guía EURACHEM Quantifying uncertainty in analytical measurement [9]. Se consideró el siguiente modelo matemático:

$$\omega_{Hg} = (\omega_x - \omega_B) * f_c * f_d * f_{rep} * f_{sesgo} \quad (3)$$

En la tabla 8, se presenta el significado de cada uno de los símbolos y se resume su contribución en la incertidumbre de la fracción de masa de Hg (w_{Hg}) medida en la muestra de sedimento de presa, aplicando el método de preconcentración desarrollado, utilizando el extractante CYANEX 301. Se incluye la incertidumbre estándar, $u(x_i)$, la incertidumbre estándar relativa $u(x_i)/x_i$ y los coeficientes de sensibilidad, C_i , calculados a partir de la derivada parcial del modelo matemático, con respecto a cada una de las variables,

$C_i = (\partial y / \partial x_i)$. Se aplicó un tratamiento similar para el extractante CYANEX 471X. Esta información se representa gráficamente en la Figura 1, donde se observan diferencias importantes entre los dos extractantes estudiados, atribuyéndolas principalmente al método de cuantificación utilizado. Para el CYANEX 471X, se observa que la contribución principal a la incertidumbre, se debe a la determinación de la fracción de masa de Hg en la muestra (w_x) a través de adiciones de patrón. En la Tabla 9, se presenta la incertidumbre expandida para la medición de la fracción de masa de Hg en la muestra, para cada uno de los extractantes.

Tabla 9. Incertidumbre expandida

Extractante	w_{Hg} , mg/kg	U (k=2)
CYANEX 301	0,047	0,006
CYANEX 471X	0,049	0,018

Tabla 8. Valores e incertidumbres utilizando el extractante CYANEX 301

Símbolo	Fuente de incertidumbre	Valor	$u(x_i)$	Unidades	$u(x)/x$	C_i
ω_x	Fracción de masa de Hg en una muestra	0,00014	0,000002	mg/kg	0,01692	428,72318
ω_B	Fracción de masa de Hg en el blanco	0,00003	0,000001	mg/kg	0,02838	-428,72318
f_c	Factor de corrección x deriva	1,00875	0,02438	-	0,02417	0,04694
f_d	Factor de dilución	425,00322	3,03975	-	0,00715	0,00011
f_{rep}	Factor por repetibilidad	1,00000	0,04071	-	0,04071	0,04735
f_{sesgo}	Factor por sesgo	1.00000	0.03246	-	0.03246	0.04735

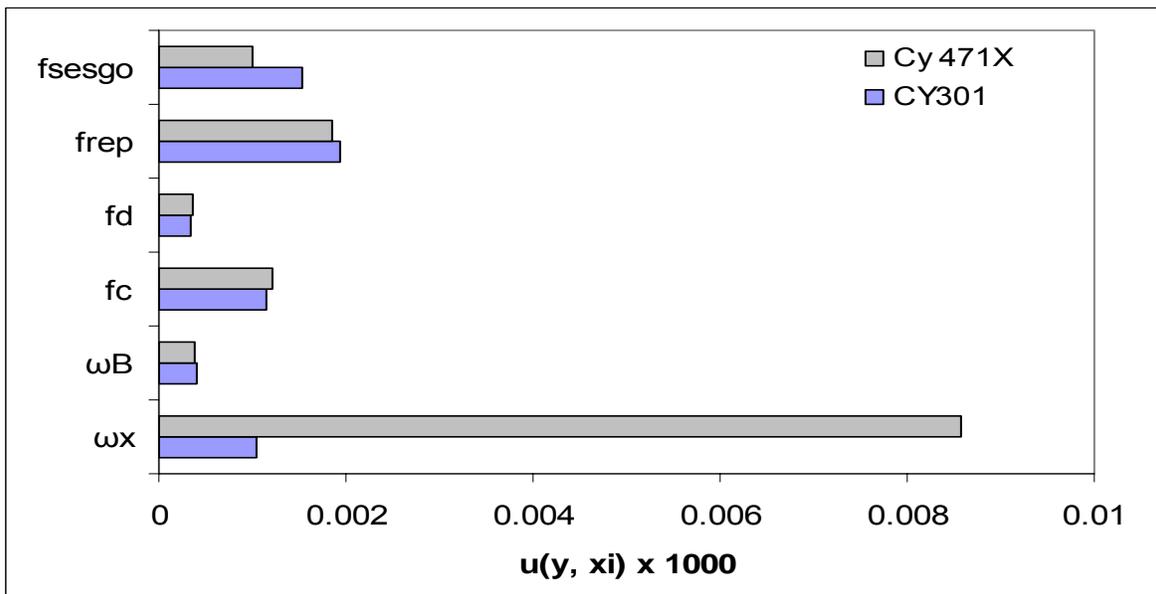


Figura 1. Contribución a la incertidumbre en la medición de Hg en sedimentos. $u(y, x_i) = (\partial y / \partial x_i) \cdot u(x_i)$

4. CONCLUSIONES

La validación del método desarrollado permitió conocer el desempeño del método a través de los parámetros evaluados.

Los límites de detección alcanzados con el método propuesto, son comparados de manera favorable con lo reportado en la literatura para otros métodos de separación y preconcentración.

Al utilizar el extractante CYANEX 471X se obtiene mayor incertidumbre debido a que la cuantificación del contenido de mercurio en la muestra se hizo aplicando la adición de patrón. Esta contribución se puede disminuir, incrementando los puntos de adición y su proporción con respecto al contenido de Hg en la muestra problema.

A partir de la validación del método, es posible decir que el método de preconcentración permite medir de manera confiable el contenido de mercurio en sedimentos con niveles naturales de este metal (<0,1 mg/kg).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a las siguientes instituciones que apoyaron el desarrollo de este proyecto: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), Proyecto 38061-U; Dirección General de Estudios de Posgrado (DGEP), UNAM, DGAPA-

UNAM (Proyectos: IN106802, PAPIIT IN106506); Dirección de Metrología de Materiales, CENAM; Comisión Nacional del Agua (CNA) delegación Querétaro; Centro Experimental Oaxaca del Consejo de Recursos Minerales.

Se agradece a la M. en C. M.T.J. Rodríguez Salazar, de la Facultad de Química, UNAM, por la asistencia técnica en el muestreo del sedimento.

Al Dr. Roberto Salas de Metrología Integral y Desarrollo S.A. de C.V., por sus valiosas recomendaciones.

REFERENCIAS

[1] Environment Canada, Mercury and the Environment, <http://www.ec.gc.ca/MERCURY/EN/index.cfm/>, fecha de consulta: 26 de mayo de 2006.
 [2] R. Falciani, E. Novaro, M. Marchesini, M. Gucciardi, Multielement analysis of soil and sediment by ICP-MS after a microwave assisted digestion method, J. of Anal. At. Spectrom., 15, 2000, 561-565.
 [3] A. Morales-Rubio, M. Mena, C.W. McLeod, Rapid determination of mercury in environmental materials using on-line microwave digestion and atomic fluorescence spectrometry, Anal. Chim. Acta, 308, 1995, 364-370.
 [4] Eurachem Working Group, The fitness for purpose of analytical methods. A laboratory guide to

method validation and related topics, LGC, Teddington, UK, 1998

[5] F. Mercader-Trejo, E. Rodríguez de San Miguel, J. de Gyves, CVAAS determination of naturally occurring levels of mercury in sediments after on-line preconcentration with a sol-gel sorbent doped with CYANEX-301, *J. Anal. At. Spectrom.*, 20, 2005, 1212-1217.

[6] Procedimiento General, 600-ACP-018 "Procedimiento para la limpieza del material utilizado en el área de Metrología de Materiales", Centro Nacional de Metrología (CENAM).

[7] F. E. Mercader-Trejo, Desarrollo de nuevos métodos de preconcentración en línea a base de materiales poliméricos para la medición de mercurio en sedimentos, Tesis de Doctorado, Facultad de Química, UNAM, 2006, pag. 86.

[8] A. Khan, F. Mahmood, S. Ahmed, M. Y. Khokhar, Removal of Cd ions by sol-gel silica doped with 1-(2-Pyridylazo)-2-naphthol, *J. Sol-Gel Sci. Tech.*, 27, 2003, 221-224.

[9] Eurachem/CITAC Working Group, Quantifying uncertainty in analytical measurement, UK, segunda edición, 2000.